

Aus der I. Inneren Abteilung des Städt.Krankenhauses
Berlin - Neukölln

(Ärztlicher Direktor: Prof.Dr. K. Holldack)

und

dem Institut für Haematologie, München der GSF
Assoziation mit EURATOM

(Leiter: Priv.-Doz.Dr. S. Thierfelder)

DER EINFLUSS EINER SERUMFRAKTION VON ZWEI PATIENTEN
MIT MILZTUMOR AUF DIE KINÉTIK DES KNOCHENMARKES
IN VITRO.

Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde am
Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt vom

Zahnarzt Jörg Dietrich Meißner
aus Wegeleben

1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der I. Inneren Abteilung des Städt.Krankenhauses
Berlin - Neukölln

(Ärztlicher Direktor: Prof.Dr. K. Holldack)

und

dem Institut für Haematologie, München der GSF
Assoziation mit EURATOM

(Leiter: Priv.-Doz.Dr. S. Thierfelder)

DER EINFLUSS EINER SERUMFRAKTION VON ZWEI PATIENTEN
MIT MILZTUMOR AUF DIE KINETIK DES KNOCHENMARKES
IN VITRO.

Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde am
Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Zahnarzt Jörg Dietrich Meißner
aus Wegeleben

Aus der I. Inneren Abteilung des Städt.Krankenhauses
Berlin - Neukölln

(Ärztlicher Direktor: Prof.Dr. K. Holldack)

und

dem Institut für Haematologie, München der GSF
Assoziation mit EURATOM

(Leiter: Priv.-Doz.Dr. S. Thierfelder)

DER EINFLUSS EINER SERUMFRAKTION VON ZWEI PATIENTEN
MIT MILZTUMOR AUF DIE KINETIK DES KNOCHENMARKES
IN VITRO.

Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde am
Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Zahnarzt Jörg Dietrich Meißner
aus Wegeleben

Referent: Prof. Dr. med. Irene B O L L

Korreferent: Prof. Dr. med. Hermann MICHEL



Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches
Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 4. 7. 1973

INHALTSVERZEICHNIS

A:	Literaturüberblick	Seite	1 - 4
B:	Methode	Seite	5 - 12
C:	Ergebnisse	Seite	13 - 42
D:	Diskussion	Seite	43 - 45
E:	Zusammenfassung	Seite	46
F:	Literatur	Seite	47 - 49

A: Literaturüberblick und Fragestellung

Bis an den Anfang des Jahrhunderts gehen die Veröffentlichungen zurück, die sich mit dem Problem des Einflusses der Milz auf das blutbildende System beschäftigen.

1916 hat E.FRANKE erstmals eine hemmende Wirkung der Milz postuliert. Er nahm an, daß die Milz Hemmstoffe, sogenannte Leukosplenine, produziert. H.E. BOCK und B.FRENZEL glaubten 1938, diesen Stoff gefunden zu haben. Sie erzeugten im Tierexperiment das Bild einer Knochenmarkhemmung. Durch Milzvenenunterbindung und Wegleiten des gesamten Milzvenenblutes von der Leber konnten sie ein mehrwöchiges Absinken der Erythrocyten-, Granulocyten- und Thrombocytenzahl im peripheren Blut erzeugen. Sie dachten an einen "Milzwirkstoff", der normalerweise durch die Leberpassage unwirksam werde. Durch ihre Versuchsanordnung sei die physiologisch angelegte Wirkung sichtbar geworden, da nunmehr der Wirkstoff dem Knochenmark in höherer Konzentration angeboten worden sei. Daraus schlossen sie allgemein auf das Vorhandensein einer splenogenen Markhemmung.

P.JOMBRES bestätigte 1939 die Ergebnisse von Bock und Frenzel und fand eine Ausschwemmungsbehinderung im Knochenmark für die Zellen der Erythropoese und der Granulocytopoese.

H.COTTIER konnte an Kaninchen zeigen, daß sich die panhämocytopenische Wirkung bei Hypersplenie auf humoralem Wege übertragen läßt. Er sah den Grund der Blutzellreduktion in einer Beeinträchtigung der Blutzellreifung und -ausschwemmung im Knochenmark.

G.RUHENSTROTH-BAUER und K.H.MAIER glaubten die Erythropoese durch ein spezifisch erythropoetisch hormonelles Prinzip gesteuert, das vermutlich im Retikuloendothelium System, insbesondere in der Milz erzeugt wird. Eine hemmende Funktion der Milz schlossen sie aus. Vielmehr falle nach einer Splenektomie der fördernde Einfluß der Milz weg.

Aus vielen Beobachtungen geht hervor, daß es nach Splenektomie zu einer länger anhaltenden Leukocytose kommt: J.G.PALMER, J.KEMP, G.E.CARTWRIGHT und M.M.WINTROBE konnten statistisch signifikante Unterschiede der Leukocytose nach Splenektomie zu anderen intraabdominellen Eingriffen zeigen. R.BAUER und H.HARTWEG nahmen Ganzkörperbestrahlungen an omentektomierten und splenektomierten Ratten vor. Dabei zeigte sich, statistisch signifikant, daß bei den bestrahlten und omentektomierten Tieren die Leukocyten auf 60 % der Normwerte abfielen, während bei splenektomierten Tieren eine starke Leukocytose bis 240 % der Normwerte auftrat. J.G.GOSTOMZYK, R.ARNOLD und G.RUHENSTROTH-BAUER kamen zu ähnlichen Ergebnissen.

Nach selektiver Röntgenbestrahlung der extraperitoneal gelegerten Milz mit einer Dosis von 300 r fanden P.A.MAURICE und J.JEANRENAUD beim Kaninchen eine Unterdrückung der Erythropoese, gemessen an der Retikuloocytenausschüttung. 18 Stunden nach der Milzbestrahlung fanden die Autoren eine signifikante Hemmung der Erythroblastenmitoserate und diskutierten einen "amitotischen Faktor". Dieser Faktor soll 2-3 Stunden nach der Bestrahlung freigesetzt werden. Plasma, das zu diesem Zeitpunkt gewonnen wurde, wurde nichtbestrahlten Tieren injiziert. Dabei wurde ebenfalls ein Abfall der Reticulocytenzahl

beobachtet. Splenektomierte und direkt nach der Splenektomie bestrahlte Tiere zeigten keine Veränderungen der Erythropoese.

J.G.LI gelang es, einen leukocytopenischen Faktor aus der bestrahlten Milz nachzuweisen. Plasma, das 2 Wochen nach der Bestrahlung reinfundiert wurde, hatte noch den leukocytopenischen Effekt.

Zur Klärung der Milzfunktion auf das Knochenmark hat der Pyrexaltest eine gewisse Bedeutung erlangt.

I.HEILMEYER hat das Ausbleiben des Leukocytenanstiegs bei Fällen von splenopathischer Markhemmung vor der Milzexstirpation beobachtet. Nach einem solchen Eingriff sah sie einen Leukocytenanstieg von durchschnittlich 65 %. H.J.STREICHER und P.H.SCHMIDT kamen zum gleichen Ergebnis.

J.WEINREICH verglich das Verhalten der Leukocytenzahl mit Hilfe des Pyrexaltests von einer Patientengruppe mit chronischer Hepatitis, Splenomegalie und Zeichen portaler Hypertension zu einer zweiten Patientengruppe ohne Pfortaderstauung und mit normaler Milzgröße. Er glaubte, daß die herabgesetzte Leukocytenzahl bei der ersten Patientengruppe durch eine "Reservoirfunktion" der gestauten Milz und der Pfortader bestimmt ist. Durch das Reservoir gingen die Zellen der Zählung verloren.

H.H.von ALBERT und H.ZICKGRAF fanden bei Knochenmarkkulturen nach Zusatz von Kälbermilzextrakt bzw. einem Extrakt einer "hyperspleninen" Milz eine deutliche Hemmung der Reifung und der Proliferation der Granulocytopoese. I.BOLL hat das Knochenmark und seine Kinetik bei Patienten mit Milztumor in 3-Tagekulturen untersucht

und berichtet von einer Verzögerung der Reifung und Verminderung der Regeneration in der Erythropoese sowie in der Granulocytopoese.

Die vorliegende Arbeit will durch Differential- und Mitosezählung prüfen, inwieweit eine Serumfraktion, die von Patienten mit einem Milztumor gewonnen wurde, die Kinetik des Knochenmarks in vitro beeinflusst.

B. Methode

Das Serum zweier Patienten (D. und G.) wurde zweimal je 4 Stunden und einmal über Nacht gegen 0,9 %ige physiologische Kochsalzlösung, die mittels n/10 NaOH auf pH 7,2 gebracht worden war, dialysiert. Die Dialyse erfolgte in einem entsprechenden Dialyseschlauch bei 4°C unter starkem Drehen des Dialysegutes. Das Dialysegut wurde eingefroren, zur Austestung wurde es durch Zugabe von Aqua dest. auf das Ausgangsvolumen gebracht. Es ist nach den zwei Patienten mit D-1 und G-1 bezeichnet.

Die Patienten hatten zur Zeit der Serumentnahme folgende Blutwerte:

Patientin K.D. (D-1)

55 Jahre, weiblich

Diagnose: Splenomegale Markhemmung mit
hämorrhagischer Diathese bei
Lebercirrhose.

Blutbild vom 29.9.1970

Erythrocyten	4,28 Mill/mm ³
Hb	14,1 g%
Hb _E	32,8 pg
Leukocyten	4600 /mm ³
Eosinoph.	2 %
Segmentk.	50 %
Lymphoc.	44 %
Monoc.	4 %
Thromboc.	26000/mm ³
BSG	9/18 mm n.W.
Eisenspiegel im Serum	220 γ%

Elektrophorese (Serum)

	<u>Normalwerte</u>	<u>rel.%</u>
A	40-50	30,8
α ₁	3-9	8,8
α ₂	8-12	13,0
β	12-18	12,4
γ	22-26	34,0
Ges.EW	6,6-8,2 g%	6,86 g%

Patientin K.G. (G-1)

75 Jahre, weiblich

Diagnose: Milztumor ohne nachweisbaren
Leberschaden

Blutbild vom 8.6.1970

Erythrocyten	4,18 Mill/mm ³
Hb	12,6 g%
Hb _E	30,0 pg
Leukocyten	4800 /mm ³
Eosinoph.	2 %
Stabk.	1 %
Segmentk.	44 %
Lymphoc.	48 %
Monoc.	5 %
Thromboc.	158000/mm ³
Eisenspiegel im Serum	107,9 %

Die von diesen Patientinnen gewonnenen Serumdialysate wurden den Knochenmarkkulturen der folgenden Patienten zugegeben. Sie hatten zur Zeit der Sternalpunktion folgende Krankheitsbefunde:

Versuch I:

Gr.E., weiblich, geb. 8.1.1918

Die Patientin wurde ambulant untersucht wegen Verdachts auf unbehandelter perniziöser Anaemie.

Blutbild:

Erythrocyten	4,0 Mill/mm ³
Hb	13,9 g%
Hb _E	34,8 pg
Leukocyten	8100/mm ³
Eosinoph.	3 %
Stabk.	1 %
Segmentk.	69 %
Lymphoc.	24 %
Monoc.	3 %
Thromboc.	240000/mm ³
BSG	30/56 mm n.W.

Versuch II:

Pr.A., männlich, geb. 16.8.1922

stationäre Einweisung wegen Kollaps auf Grund einer Intoxikation mit Trichloräthylen-Lösungsdämpfen nach einer Arbeit mit Kautschuklack.

Blutbild:

Erythrocyten	2,96 Mill/mm ³
Hb	10,1 g%
Hb _E	33,6 pg
Leukocyten	10600/ mm ³
Eosinoph.	3 %
Segmentk.	65 %
Lymphoc.	28 %
Monoc.	4 %
Thromboc.	70000/ mm ³

Versuch III:

Br.F., weiblich, geb. 28.3.1889

Stationäre Einweisung mit einer stark beschleunigten
BSG 108/143 und einer hypochromen Anämie.

Blutbild:

Erythrocyten	2,52 Mill/mm ³
Hb	6,2 g%
Hb _E	24,5 pg
Leukocyten	8200/mm ³
Eosinoph.	1 %
Segmentk.	84 %
Lymphoc.	9 %
Monoc.	6 %
Thromboc.	472000/mm ³
Eisenspiegel im Serum	52,3 %

Versuch IV:

Tr.W., männlich, geb. 6.3.1944

Stationäre Einweisung erfolgte wegen Hypertonus,
außerdem bestand ein Alkoholabusus.

Blutbild:

Erythrocyten	5,1 Mill/mm ³
Hb	15,4 g%
Hb _E	30,2 pg
Leukocyten	10300/mm ³
Basoph.	2 %
Eosinoph.	1 %
Stabk.	5 %
Segmentk.	69 %
Lymphoc.	18 %
Monoc.	5 %
Thromboc.	190000/mm ³
BSG	3/13 n.w.

Die Kultivierung des Knochenmarks wurde nach der Carrel-Deckglasmethode, modifiziert nach Boll, durchgeführt. Das Medium, welches zur Koagulation gebracht wurde, bestand aus:

1. für die Kontrollkulturen

- 50 % Nativplasma des jeweiligen Patienten
- 40 % Serum des jeweiligen Patienten
- 10 % Corhormon^R, 3-fach verstärkt (Fa. Chemiewerke Homburg)

2. für die Zusatzkulturen

- 50 % Nativplasma des jeweiligen Patienten
- 40 % Dialysegut D bzw. G
- 10 % Corhormon^R, 3-fach verstärkt (Fa. Chemiewerke Homburg)

Die Versuche I, II, III a enthielten den Zusatz D-1, die Versuche III b und IV den Zusatz G-1. Für die Versuche III a und III b wurden somit die gleichen Kontrollen verwendet, sie unterschieden sich nur durch den Zusatz.

Nach 0, 24, 48 und 72 Stunden wurden Ausstriche der Kontrollkulturen sowie der Zusatzkulturen nach Pappenheim gefärbt. Auf diesen Ausstrichen wurde nach von I.BOLL angegebenen Kriterien die Differentialzählung vorgenommen. Dabei wurden jeweils 2000 Zellen differenziert. Diese Anzahl erfaßt nach BOLL und FUCHS eine gleichmäßige Verteilung der Zellen.

Im weiteren Text werden für die einzelnen Zellarten folgende Abkürzungen benutzt:

<u>Zellart:</u>	<u>Abkürzung:</u>
Proerythroblast	PE
basophiler Erythroblast	bE
polychromatischer Erythroblast	pE
oxyphiler Erythroblast	oE
reifer Erythroblast	rE
Myeloblast	Mb
Promyelocyt	Pr
neutrophiler Myelocyt	My
eosinophiler Myelocyt	eMy
basophiler Myelocyt	bMy
Promonocyt	Pm
Metamyelocyt	J
stabkerniger Granulocyt	St
neutrophiler segmentkern.Gran.	Se
eosinophiler segmentkern.Gran.	eSe
basophiler segmentkern.Gran.	bSe
Monocyt	MZ

Abgrenzung der verschiedenen Mitosephasen gegeneinander nach BOLL:

1. Prophase (P)

Auflösung der Kernmembran, Lockerung der Kernsubstanz. Die Nucleolen verschwinden, die Chromosomen sind in einem festen Spirem geordnet.

2. Frühe Metaphase (fM):

Bildung eines lockeren Spirems, Verteilung der Chromosomen über die ganze Zelle.

3. Späte Metaphase (sM):

Es findet eine Chromosomenverdoppelung statt, Anordnung der Chromosomen in der Äquatorialebene, Bildung des Monasters.

4. Anaphase (A):

Diasterbildung, Auseinanderweichen der Chromosomen zu den Spindelpolen.

5. Telophase (T):

Einschnürung des Cytoplasmas. Die Chromosomen bilden jetzt ein lockeres Dispirem.

6. Rekonstruktionsphase (R):

Bildung eines festen Dispirems, die Kerne sind durch das Fehlen der Membranen und Nucleolen in den durch Cytoplasmateilung entstandenen 2 Zellen noch nicht völlig ausgebildet.

Mitosen treten auf:

- 1.) in der Erythropoese bis zu den oxyphilen Erythroblasten,
- 2.) in der Granulocytopoese bis zu den Metamyelocyten.

Als Parameter für die Kinetik des Knochenmarkes wurden die folgenden Daten ermittelt:

- 1.) Reifungskurven (Differentialverteilung der Erythropoese bzw. Granulocytopoese/Zeiteinheit)
- 2.) Mitoseindices (Mitosen/teilungsfähige Zellen)
- 3.) Caryologische Kurven (Prozentuale Verteilung der Mitosen auf die Mitosephasen)
- 4.) G/E-Index (Verhältnis der gesamten Granulocytopoese/Erythropoese)

C: Ergebnisse

Die Figuren 1-5 zeigen die Reifungskurven für die Erythropoese und die Granulocytopoese der untersuchten 5 Versuche. Neutrophiler Myelocyt, eosinophiler Myelocyt und basophiler Myelocyt sind, da eosinophile und basophile Myelocyten recht selten waren, der Übersicht halber zu einer Kurve zusammengefaßt worden.

Mit Hilfe des χ^2 -Verfahrens wurde geprüft, ob die gefundenen Unterschiede zwischen den Kontrollkurven und den Kurven nach Zusatz der Dialysate statistisch signifikant sind.

Die Berechnung erfolgte nach der Formel:

$$\chi_{mf}^2 = \sum \frac{(B - E)^2}{E}$$

Hierbei bedeuten:

- mf $\longrightarrow$ Anzahl der Freiheitsgrade
- B $\longrightarrow$ beobachtete Werte einer Meßreihe
- E $\longrightarrow$ erwartete Werte einer Meßreihe

Die Anzahl der Freiheitsgrade beträgt: Anzahl der Klasse minus eins.

Die Anzahl der Klassen ist gegeben durch die Anzahl der Zelltypen in der Erythropoese und der Granulocytopoese, d.h. 5 bzw. 11.

E errechnet sich aus der vereinigten Stichprobe zweier Klassen zu:

$$E = n \cdot a$$

Hierin bedeuten:

- n $\longrightarrow$ Gesamtzellzahl einer Meßreihe
- a $\longrightarrow$ Wahrscheinlichkeitwert der vereinigten Stichprobe

Die zu jedem χ^2 gehörende Wahrscheinlichkeit p ist den graphischen Tafeln von Patau entnommen. (aus: Der Mathematikunterricht 3,83 (1960))

Für die Beurteilung von p gilt:

Der Unterschied zweier Meßreihen ist statistisch gut gesichert, wenn gilt:

$$p < 0,0027$$

Das ist bei 4 Freiheitsgraden in der Erythropoese bei $\chi^2 > 16,3$, bei 10 Freiheitsgraden in der Granulocytopoese bei $\chi^2 > 27,0$ der Fall.

In den folgenden Tabellen I und II sind für jeden Versuch die Berechnungen ausgeführt. Mittelwerte aus allen Versuchen würden eine Verfälschung der Ergebnisse ergeben, da die Werte in den einzelnen Versuchen zu stark voneinander abweichend sind.

Q ist dabei als Abkürzung für den Quotienten $\frac{(B - E)^2}{E}$ gesetzt.

Tabelle I: Berechnung χ^2 für die Erythropoese

	$B_{\text{Kontr.}}$	$E_{\text{Kontr.}}$	$Q_{\text{Kontr.}}$	$B_{\text{Zus.}}$	$E_{\text{Zus.}}$	$Q_{\text{Zus.}}$
<u>Versuch I</u>						
<u>24 h</u>						
PE	28	22,629	1,274	17	22,370	1,289
bE	141	124,210	2,269	106	122,789	2,295
pE	236	257,975	1,871	277	255,024	1,893
oE	13	53,807	30,948	94	53,192	31,306
rE	94	103,089	0,801	111	101,910	0,810
n	612			605		

$$\chi^2_4 = 74,761$$

<u>48 h</u>						
PE	32	19,146	8,629	9	21,853	7,560
bE	180	136,359	13,966	112	155,640	12,236
pE	192	171,383	2,480	175	195,616	2,172
oE	114	173,718	20,529	258	198,281	17,985
rE	69	86,392	3,501	116	98,607	3,067
n	507			670		

$$\chi^2_4 = 92,129$$

<u>72 h</u>						
PE	13	5,251	11,432	2	9,748	6,158
bE	42	58,467	4,638	125	108,532	2,498
pE	86	63,018	8,380	94	116,981	4,514
oE	87	115,184	6,896	242	213,815	3,715
rE	106	92,077	2,105	157	170,922	1,134
n	334			620		

$$\chi^2_4 = 51,473$$

Fortsetzung Tab. I

	B Kontr.	E Kontr.	Q Kontr.	B Zus.	E Zus.	Q Zus.
<u>Versuch II</u>						
<u>24 h</u>						
PE	32	31,930	0,000	27	27,069	0,000
bE	111	114,190	0,089	100	96,809	0,105
pE	215	192,662	2,589	141	163,337	3,054
oE	101	123,931	4,243	128	105,068	5,005
rE	152	148,285	0,093	122	125,714	0,109
n	611			518		

$$\chi^2_4 = 15,290$$

<u>48 h</u>						
PE	12	15,711	0,876	22	18,288	0,753
bE	79	95,191	2,754	127	110,808	2,366
pE	196	192,694	0,056	221	224,305	0,048
oE	157	133,545	4,119	132	155,454	3,538
rE	129	135,856	0,346	165	158,143	0,297
n	573			667		

$$\chi^2_4 = 15,156$$

<u>72 h</u>						
PE	23	14,816	4,519	11	19,183	3,490
bE	54	50,987	0,178	63	66,012	0,137
pE	119	100,667	3,338	112	130,332	2,578
oE	122	102,846	3,567	114	133,153	2,755
rE	96	144,682	16,380	236	187,317	12,652
n	414			536		

$$\chi^2_4 = 49,597$$

Fortsetzung Tab. I

	B _{Kontr.}	E _{Kontr.}	Q _{Kontr.}	B _{Zus.}	E _{Zus.}	Q _{Zus.}
<u>Versuch III a</u>						
<u>24 h</u>						
PE 30	26,826	0,375	18	21,173	0,475	
bE 182	216,844	5,599	206	171,155	7,093	
pE 216	214,049	0,017	167	168,950	0,022	
oE 139	105,068	10,957	49	82,931	13,882	
rE 50	54,211	0,327	47	42,788	0,414	
n 617			487			

$$\chi^2_4 = 39,166$$

48 h

PE 9	20,689	6,604	29	17,310	7,894	
bE 78	161,708	43,331	219	135,291	51,792	
pE 198	311,983	41,643	375	261,016	49,775	
oE 385	323,961	11,500	210	271,038	13,745	
rE 791	643,567	33,774	391	538,432	40,369	
n 1463			1224			

$$\chi^2_4 = 300,434$$

Fortsetzung Tab. I

	B _{Kontr.}	E _{Kontr.}	Q _{Kontr.}	B _{Zus.}	E _{Zus.}	Q _{Zus.}
<u>Versuch III b</u>						
<u>24 h</u>						
PE	30	23,776	1,629	10	16,223	2,387
bE	182	179,512	0,034	120	122,487	0,050
pE	216	214,582	0,009	145	146,417	0,013
oE	139	144,442	0,205	104	98,557	0,300
rE	50	54,605	0,401	42	37,314	0,588
n	617			421		

$$\chi^2_4 = 5,620$$

<u>48 h</u>						
PE	9	13,229	1,352	15	10,770	1,661
bE	78	182,461	59,805	253	148,538	73,463
pE	198	309,247	40,019	363	251,752	49,159
oE	385	334,604	7,590	222	272,395	9,323
rE	791	622,353	45,699	338	506,646	56,136
n	1463			1191		

$$\chi^2_4 = 344,212$$

Fortsetzung Tab. I

	B _{Kontr.}	E _{Kontr.}	Q _{Kontr.}	B _{Zus.}	E _{Zus.}	Q _{Zus.}
<u>Versuch IV</u>						
<u>24 h</u>						
PE	12	14,744	0,510	13	10,255	0,734
bE	122	145,671	3,846	125	101,328	5,530
pE	243	209,366	5,402	112	145,633	7,767
oE	248	221,161	3,256	127	153,838	4,682
rE	78	112,055	10,349	112	77,944	14,879
n	703			489		

$$\chi^2_4 = 56,960$$

48 h

PE	2	2,373	0,058	4	3,626	0,038
bE	24	42,324	7,933	83	64,675	5,191
pE	79	99,680	4,290	173	152,320	2,807
oE	170	122,226	18,672	139	186,773	12,219
rE	170	170,395	0,395	281	272,604	0,258
n	445			680		

$$\chi^2_4 = 51,866$$

72 h

PE	0	0,516	0,516	1	0,483	0,551
bE	42	62,998	6,999	80	59,001	7,473
pE	56	67,129	1,845	74	62,870	1,970
oE	49	60,416	2,157	68	56,583	2,303
rE	247	202,938	9,566	146	190,061	10,214
n	394			369		

$$\chi^2_4 = 43,598$$

Tabelle II: Berechnung χ^2 für die Granulocytopoese

	B _{Kontr.}	E _{Kontr.}	Q _{Kontr.}	B _{Zus.}	E _{Zus.}	Q _{Zus.}
<u>Versuch I</u>						
<u>24 h</u>						
Mb	23	20,359	0,342	17	19,640	0,354
Pr	264	297,757	3,027	321	287,242	3,967
My	419	391,410	1,944	350	377,589	2,015
eMy	47	45,808	0,030	43	44,191	0,032
bMy	14	15,269	0,105	16	14,730	0,109
Pm	4	8,652	2,501	13	8,347	2,593
J	30	36,138	0,095	33	34,861	0,099
Stb	110	114,522	0,178	115	110,477	0,185
Seg	279	253,984	2,463	220	245,015	2,554
eSeg	35	46,317	2,765	56	44,682	2,866
Mo	13	15,778	0,489	18	15,221	0,507
n	1246			1202		

$$\chi^2_{10} = 30,031$$

<u>48 h</u>						
Mb	12	9,839	0,474	8	10,160	0,459
Pr	330	314,864	0,727	310	325,135	0,704
My	324	283,070	5,672	253	293,129	5,493
eMy	73	48,705	12,117	26	50,294	11,735
bMy	5	10,331	2,751	16	10,668	2,664
Pm	21	16,727	1,091	13	17,272	1,056
J	65	53,625	2,412	44	55,374	2,336
Stb	124	111,678	1,359	103	115,321	1,316
Seg	233	254,351	1,792	284	262,648	1,735
eSeg	37	60,021	8,829	85	61,978	8,550
Mo	33	29,026	0,543	26	29,973	0,526
n	1257			1298		

$$\chi^2_{10} = 74,354$$

Fortsetzung Tab. II

	B _{Kontr.}	E _{Kontr.}	Q _{Kontr.}	B _{Zus.}	E _{Zus.}	Q _{Zus.}
<u>72 h</u>						
Mb	6	10,750	2,099	11	6,249	3,611
Pr	320	337,703	0,928	214	196,296	1,596
My	534	524,894	0,157	296	305,105	0,271
eMy	140	119,524	3,507	49	69,475	6,034
bMy	11	13,280	0,391	10	7,719	0,673
Pm	24	30,987	1,575	25	18,012	2,710
J	113	96,757	2,726	40	56,242	4,690
Stb	162	161,262	0,003	93	93,732	0,005
Seg	410	405,370	0,052	231	235,629	0,090
eSeg	87	108,773	4,358	85	63,226	7,498
Mo	51	48,695	0,109	26	28,304	0,187
n	1858			1080		

$$\chi^2_{10} = 43,283$$

Versuch II

24 h

Mb	26	17,029	4,725	9	17,970	4,478
Pr	187	210,673	2,660	246	222,326	2,520
My	300	330,362	2,790	379	348,637	2,644
eMy	107	117,743	0,900	135	124,256	0,928
bMy	13	16,055	0,581	20	16,944	0,551
Pm	21	11,677	7,443	3	12,322	7,053
J	155	141,097	1,369	135	148,902	1,298
Stb	42	42,329	0,002	45	44,670	0,002
Seg	108	113,364	0,253	125	119,635	0,240
eSeg	59	44,275	4,896	32	46,724	4,640
Mo	139	112,391	6,299	92	118,608	5,969
n	1157			1221		

$$\chi^2_{10} = 62,331$$

Fortsetzung Tab. II

	$E_{\text{Kontr.}}$	$E_{\text{Kontr.}}$	$Q_{\text{Kontr.}}$	$B_{\text{Zus.}}$	$E_{\text{Zus.}}$	$Q_{\text{Zus.}}$
<u>48 h</u>						
Mb	15	14,843	0,001	14	14,156	0,001
Pr	208	239,547	4,154	260	228,452	4,356
My	225	270,770	7,737	304	258,229	8,112
eMy	63	119,773	26,911	171	114,226	28,218
bMy	11	28,663	10,885	45	27,336	11,413
Pm	11	18,426	2,993	25	17,573	3,138
J	132	127,451	0,162	117	121,548	0,170
Stb	139	82,920	37,926	23	79,079	39,769
Seg	222	157,139	26,771	85	149,860	28,072
eSeg	48	41,972	0,865	34	40,027	0,907
Mo	135	107,489	7,040	75	102,510	7,382
n	1209			1153		

$$\chi^2_{10} = 256,995$$

72 h

Mb	26	17,375	4,281	9	17,624	4,220
Pr	238	262,612	2,306	291	266,387	2,273
My	225	330,126	33,477	440	334,873	33,002
eMy	66	105,243	14,633	146	106,756	14,425
bMy	19	32,764	5,782	47	33,235	5,700
Pm	17	14,396	0,470	12	14,603	0,464
J	184	130,065	22,365	78	131,934	22,048
Stb	130	81,911	28,232	35	83,088	27,832
Seg	161	127,086	9,049	95	128,913	8,921
eSeg	55	44,678	2,384	35	45,321	2,350
Mo	131	105,739	6,034	82	107,260	5,948
n	1252			1270		

$$\chi^2_{10} = 256,207$$

Fortsetzung Tab. II

	B _{Kontr.}	E _{Kontr.}	Q _{Kontr.}	B _{Zus.}	E _{Zus.}	Q _{Zus.}
<u>Versuch III a</u>						
<u>24 h</u>						
Mb	3	7,484	2,686	12	7,515	2,675
Pr	303	327,805	1,877	354	329,194	1,869
My	361	395,661	3,036	432	397,338	3,023
eMy	37	27,940	2,937	19	28,059	2,924
bMy	2	7,484	4,018	13	7,515	4,001
Pm	12	12,473	0,017	13	12,526	0,017
J	54	48,397	0,648	43	48,602	0,645
Stb	81	79,331	0,035	78	79,668	0,034
Seg	481	424,101	7,633	369	425,898	7,601
eSeg	61	63,365	0,088	66	63,634	0,087
Mo	21	21,953	0,041	23	22,046	0,041
n	1416			1422		

$$\chi^2_{10} = 45,945$$

<u>48 h</u>						
Mb	12	5,784	6,678	9	6,215	1,247
Pr	498	507,604	0,181	555	545,395	0,169
My	716	675,841	2,386	606	726,158	2,220
eMy	117	86,769	10,531	63	93,230	9,802
bMy	5	11,087	3,342	18	11,912	3,110
Pm	64	46,277	6,707	32	49,722	6,316
J	99	125,334	5,533	161	134,665	5,149
Stb	115	117,621	0,058	129	126,378	0,054
Seg	763	728,385	1,644	748	782,614	1,530
eSeg	76	70,862	0,372	71	76,137	0,346
Mo	56	59,774	0,238	68	64,225	0,221
n	2364			2540		

$$\chi^2_{10} = 67,925$$

Fortsetzung Tab. II

	$E_{\text{Kontr.}}$	$E_{\text{Kontr.}}$	$Q_{\text{Kontr.}}$	$B_{\text{Zus.}}$	$E_{\text{Zus.}}$	$Q_{\text{Zus.}}$
<u>Versuch III b</u>						
<u>24 h</u>						
Mb	3	4,423	0,458	6	4,576	0,442
Pr	303	314,557	0,424	337	325,442	0,410
My	361	392,705	2,559	438	406,294	2,474
eMy	37	25,557	5,122	15	26,442	4,951
bMy	2	2,457	0,085	3	2,542	0,082
Pm	12	13,761	0,225	16	14,238	0,218
J	54	61,928	1,015	72	64,071	0,981
Stb	81	76,181	0,304	74	78,818	0,294
Seg	481	442,837	3,288	420	458,162	3,178
eSeg	61	54,064	0,889	49	55,935	0,859
Mo	21	27,523	1,546	35	28,476	1,494
n	1416			1465		

$$\chi^2_{10} = 31,308$$

<u>48 h</u>						
Mb	12	14,344	0,383	18	15,655	0,351
Pr	498	470,026	1,664	485	512,973	1,525
My	716	667,982	3,451	681	729,016	3,162
eMy	117	86,546	10,716	64	94,453	9,818
bMy	5	11,475	3,654	19	12,524	3,348
Pm	64	30,601	36,449	0	33,398	33,398
J	99	109,975	1,095	131	120,024	1,003
Stb	115	93,240	5,078	80	101,759	4,652
Seg	763	835,337	6,264	984	911,662	5,739
eSeg	76	68,854	0,741	68	75,145	0,679
Mo	56	50,684	0,557	50	55,315	0,510
n	2364			2580		

$$\chi^2_{10} = 134,247$$

Fortsetzung Tab. II

	B _{Kontr.}	E _{Kontr.}	Q _{Kontr.}	B _{Zus.}	E _{Zus.}	Q _{Zus.}
<u>Versuch IV</u>						
<u>24 h</u>						
Mb 11		13,270	0,388	17	14,729	0,349
Pr 457		384,364	13,726	354	426,635	12,366
My 210		234,599	2,579	285	260,400	2,323
eMy 40		28,910	4,253	221	32,089	3,832
bMy 3		8,530	3,585	15	9,469	3,230
Pm 33		35,071	0,122	41	38,928	0,110
J 23		49,763	14,393	82	55,236	12,967
Stb 11		10,426	0,031	11	11,573	0,028
Seg 68		86,730	4,045	115	96,269	3,644
eSeg 5		11,374	3,572	19	12,625	3,218
Mo 21		18,957	0,220	19	21,042	0,198
n 882				979		

$$\chi^2_{10} = 89,190$$

48 h

Mb 5		6,636	0,403	8	6,364	0,420
Pr 542		509,441	2,080	456	488,563	2,170
My 260		301,173	5,628	330	288,829	5,868
eMy 88		72,996	3,083	55	70,004	3,216
bMy 3		2,041	0,449	1	1,958	0,468
Pm 45		31,138	6,170	16	29,862	6,434
J 32		59,213	12,506	84	56,786	13,040
Stb 5		20,418	11,642	35	19,581	12,140
Seg 167		151,607	1,562	130	145,394	1,629
eSeg 39		37,263	0,080	34	35,736	0,084
Mo 24		22,970	0,046	21	22,029	0,048
n 1220				1170		

$$\chi^2_{10} = 89,179$$

Fortsetzung Tab. II

	B _{Kontr.}	E _{Kontr.}	Q _{Kontr.}	B _{Zus.}	E _{Zus.}	Q _{Zus.}
<u>72 h</u>						
Mb	7	7,759	0,074	11	10,240	0,056
Pr	313	300,888	0,487	385	397,111	0,369
My	218	261,229	7,153	388	344,770	5,420
eMy	61	41,382	9,299	35	54,617	7,045
bMy	0	0,000	0,000	0	0,000	0,000
Pm	57	27,588	31,354	7	36,411	23,757
J	47	65,522	5,236	105	86,477	3,967
Stb	24	27,157	0,367	39	35,842	0,278
Seg	208	166,824	10,162	179	220,175	7,700
eSeg	38	57,763	6,762	96	76,236	5,123
Mo	22	33,192	3,774	55	43,807	2,859
n	985			1300		

$$\chi^2_{10} = 131,250$$

Die Berechnungen zeigen, daß der unterschiedliche Verlauf von Kontroll- und Zusatzkulturen statistisch gut gesichert ist. Ausgenommen hiervon sind in der Erythropoese der Versuch II nach 24 und 48 h und der Versuch III b nach 24 h, sie fallen somit für die Beurteilung aus.

Die Reifungskurven der beiden hämatopoetischen Reihen zeigen ein unterschiedliches, nicht einheitliches Verhalten.

Die signifikanten Veränderungen der Erythropoese zeigen beim Versuch I eine Verminderung der basophilen Vorstufen nach 24 h, nach 48 h sind die polychromatischen Erythroblasten vermindert. Bei Versuch II ergeben sich erst nach 72 h signifikante Veränderungen durch Zugabe des Dialysates. Es bewirkt eine Abnahme, die auch die oxyphilen Erythroblasten einschließt. In den Versuchen III a und IV kommt es zum umgekehrten Verhalten einer Reifungshemmung.

In der Granulocytopoese zeigt sich nach 24 h eine Zunahme unreifer Vorstufen in den Versuchen I, II, III a und III b. Nur im Versuch IV nehmen sie ab, bei extremer Zunahme teilungsfähiger Vorstufen in den Kontrollen. Nach 48 h erfolgt eine Abnahme der unreifen Vorstufen im Versuch I, III a und III b. Nach 72 h fällt die starke Zunahme der Myelocyten, Promonocyten und der Jugendlichen um ca. 20 % bei Versuch II auf, auch im Versuch I nehmen sie wieder zu.

In den Fig. 1-5 sind die Reifungskurven aller Versuche dargestellt, jeweils für die Erythropoese und die Granulocytopoese. Außerdem sind die Mitoseindices beider Reihen (r MI und w MI) und der G/E - Index angegeben.

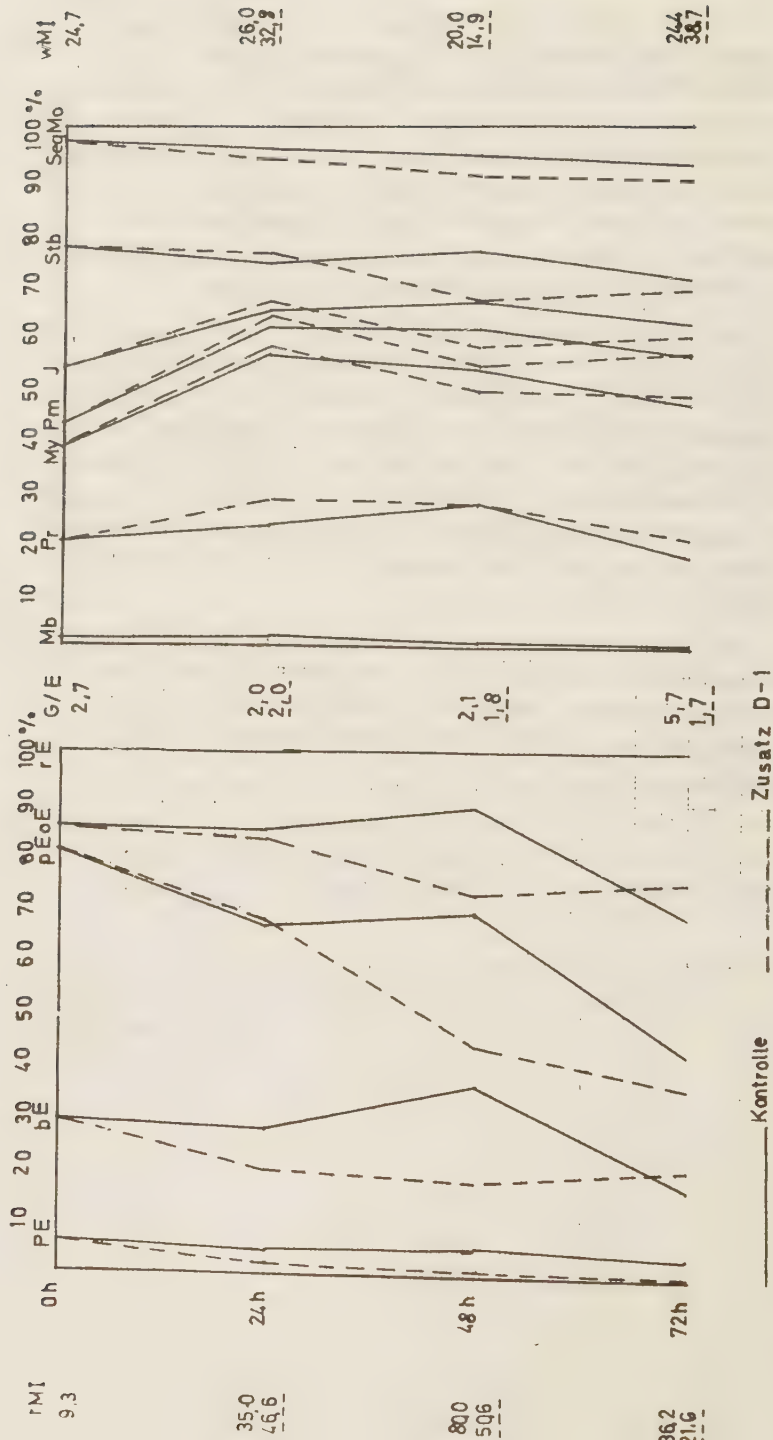


Fig.1 Reifungskurven der Erythropoese und der Granulocytopenie Versuch I behandelte perniciose Anaemie
 Abszisse: prozentuale Addition der Zellarten in der Erythropoese und in der Granulocytopenie
 Ordinate: Zeit in Stunden rMI: roter Mitoseindex wMI: weißer Mitoseindex in %
 G/E: Index der Granulocytopenie zur Erythropoese

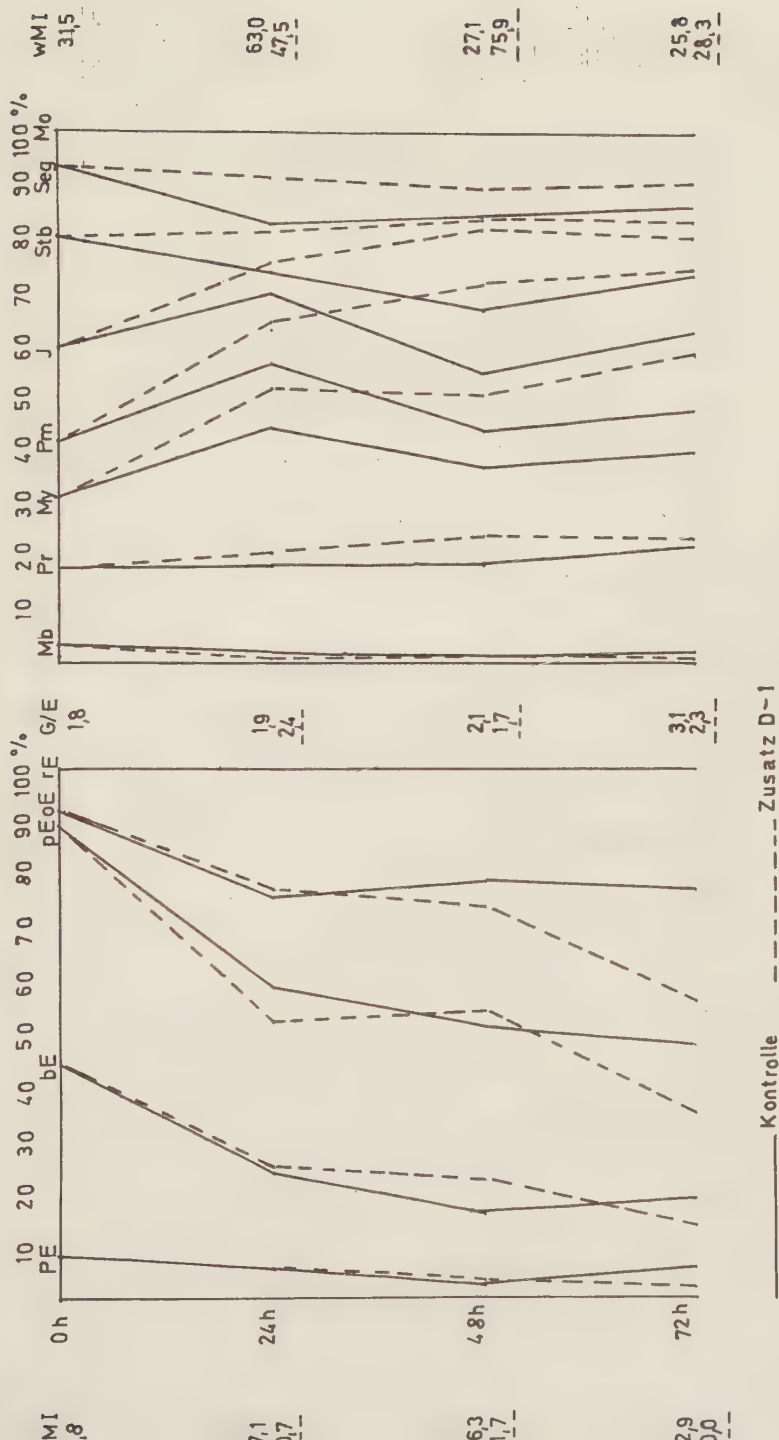
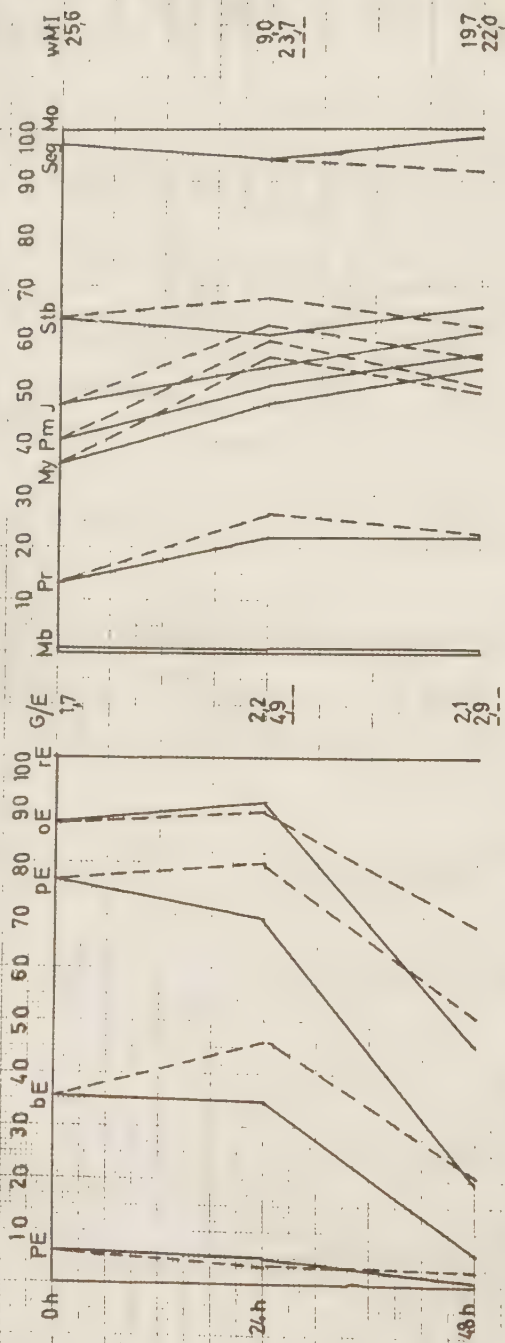


Fig. 2 Reifungskurven der Erythropoese und der Granulocytopenie Versuch II Trichloräthylenintoxikation



_____ Kontrolle - - - - - Zusatz D-1

Fig. 3 Reifungskurven der Erythropoese und der Granulocytopenie Versuch III a

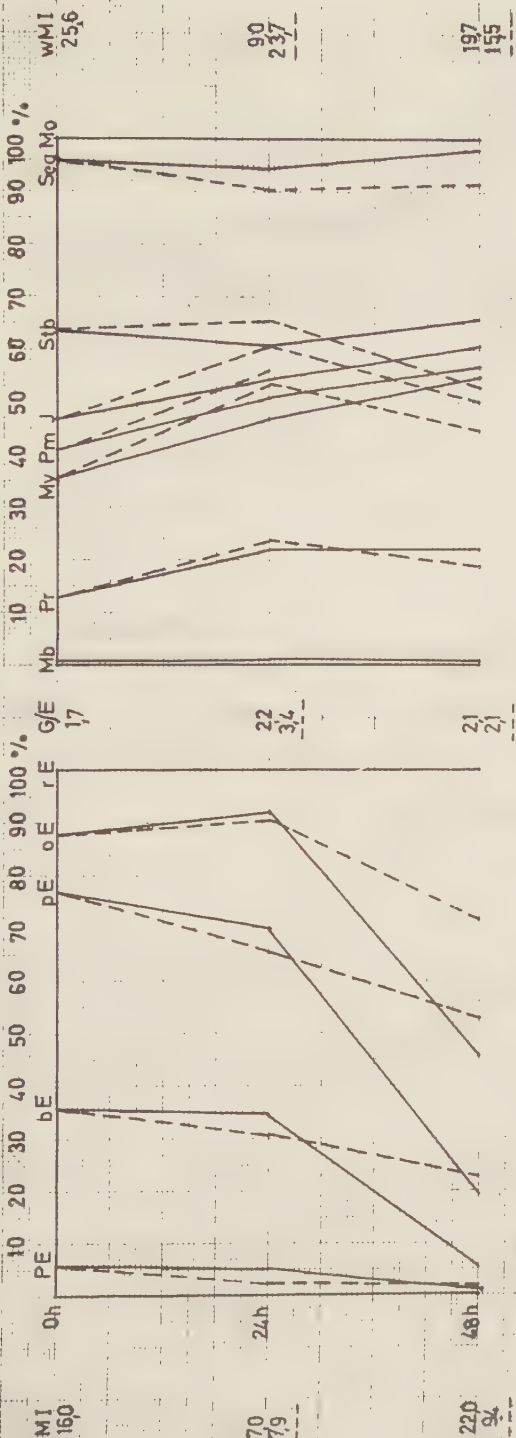
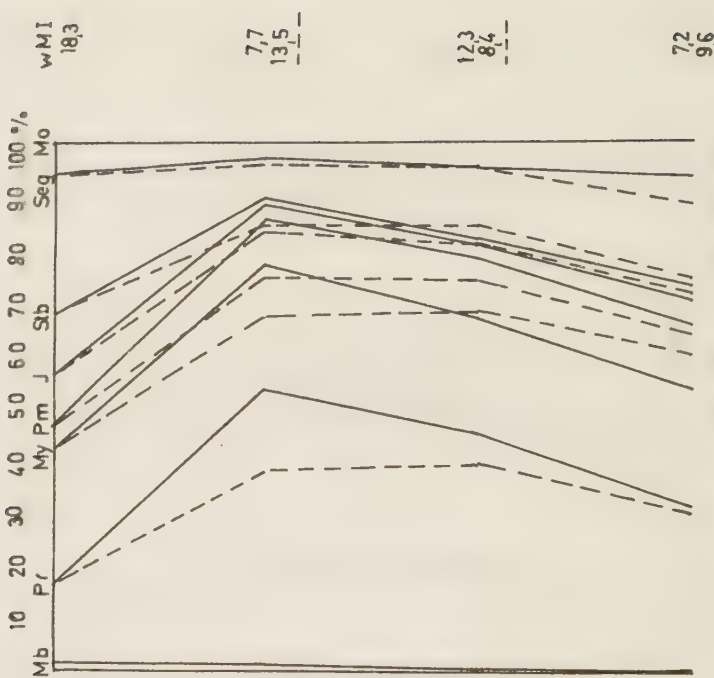
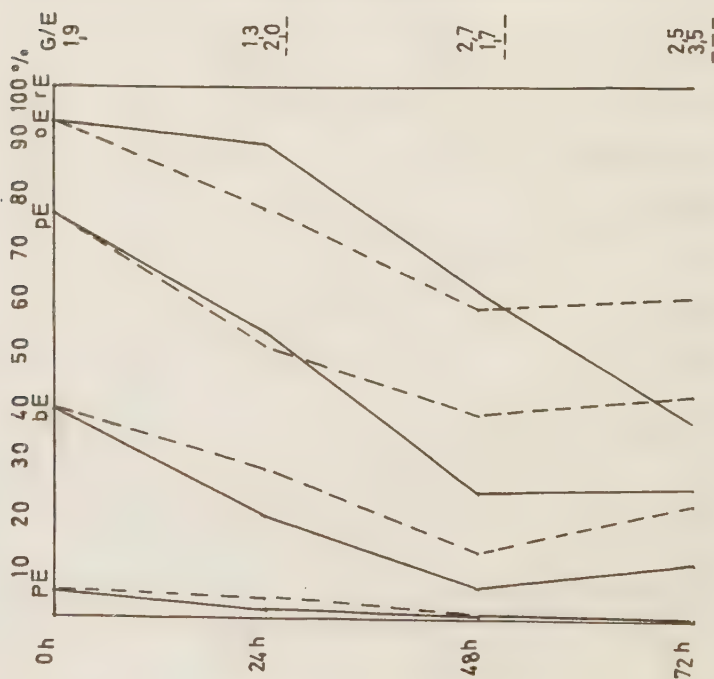


Fig.4 Reifungskurven der Erythropoese und der Granulocytopenie Versuch III b

VERSUCH IV: Tr.W.



----- Zusatz G-1

----- Kontrolle

Tab. III zeigt die berechneten Mitoseindices in Erythropoese und Granulocytopoese, Fig. 6 die graphische Darstellung der arithmetischen Mittel der Indices.

Tabelle III: Mitoseindices, angegeben in %

<u>Erythropoese:</u>		Kontrolle				Zusatz		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	
Fall I	9,30	35,00	80,00	36,19	46,60	50,60	21,60	
Fall II	49,75	87,14	56,35	62,89	70,70	71,71	50,00	
Fall III a	16,00	7,05	22,00	-	38,70	13,10	-	
Fall III b	16,00	7,05	22,00	-	7,93	9,42	-	
Fall IV	19,60	17,60	7,27	13,60	18,60	7,51	13,45	
arithmetische Mittel	22,13	30,76	37,52	37,56	36,50	30,47	28,35	

<u>Granulocytopoese:</u>		Kontrolle				Zusatz		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	
Fall I	24,70	26,00	20,00	24,39	32,80	14,90	38,70	
Fall II	31,47	63,04	27,06	25,80	47,46	75,85	28,34	
Fall III a	25,65	9,06	19,75	-	23,70	22,00	-	
Fall III b	25,65	9,06	19,75	-	18,00	15,54	-	
Fall IV	18,30	7,72	12,30	7,22	13,49	8,42	9,66	
arithmetische Mittel	25,15	22,97	19,77	19,13	27,15	27,34	25,56	

Bei den Fällen III a und III b waren die Kulturzeiten für die Kontrolle 24 h, 46 h, 52 h, für den Zusatz D-1 bzw. G-1 24 h, 48 h, 52 h. Die Werte für 46 h und 52 h wurden den 48 h-Werten zugeschlagen.

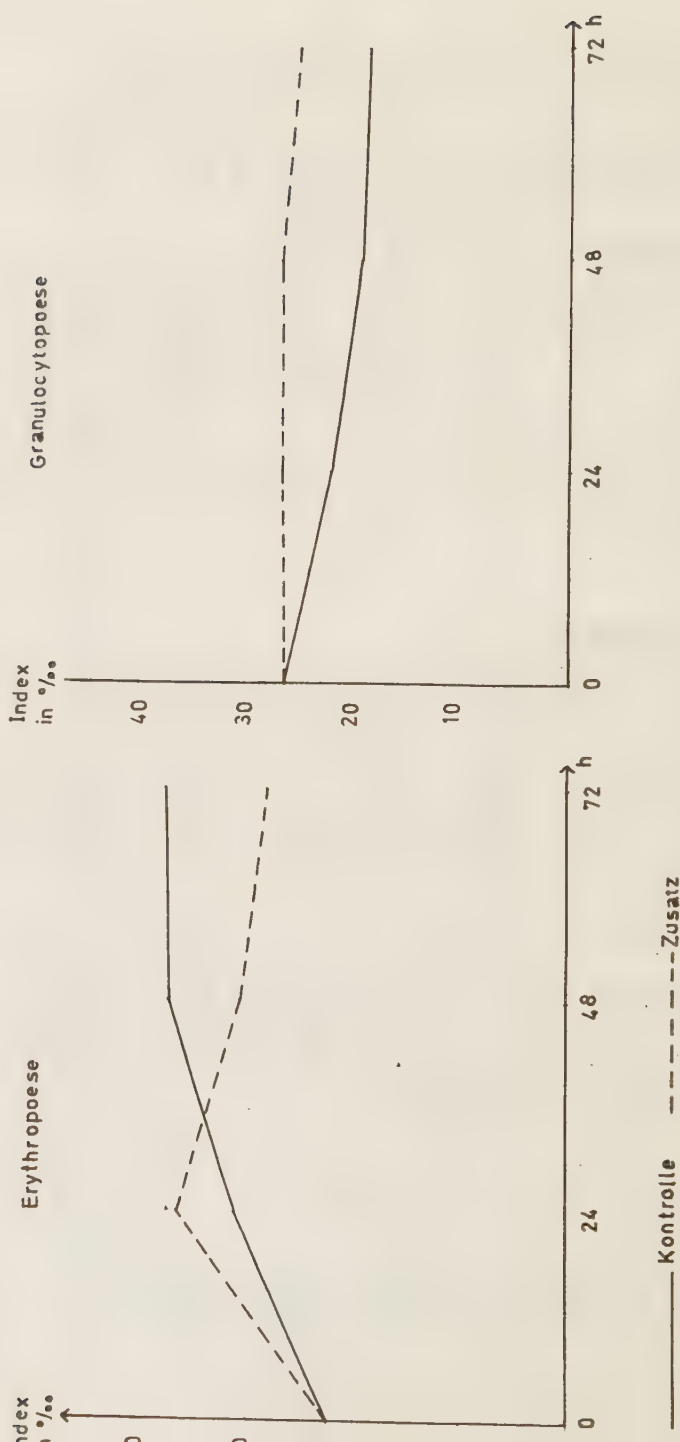


Fig. 6 Mitoseindex als arithmetisches Mittel aller Versuche
Abszisse: Zeit in Stunden Ordinate: roter(rMl) bzw. weißer(wMl) Mitoseindex in %.

Die statistische Überprüfung der in Fig. 6 dargestellten Kurven erfolgte wiederum mit dem χ^2 -Verfahren. Dabei sind für B die Anzahl der beobachteten Mitosen einzusetzen, n ergibt sich aus der Anzahl der teilungsfähigen Zellen.

Aus Tab. IV sind die Anzahl der Mitosen und die Anzahl der teilungsfähigen Zellen ersichtlich. In Tab. V sind die Werte der Signifikanzberechnung aufgeführt. Die Unterschiede sind statistisch sicher bei $\chi^2 > 9$.

Tab. IV: Anzahl der Mitosen und der teilungsfähigen Zellen

Erythropoese		24 h	48 h	72 h
Mitosen	Kontr.	73	85	30
	Zusatz	78	87	28
Teilungsfähige	Kontr.	2175	1907	693
	Zusatz	2086	3341	986
Granulocytopoese				
Mitosen	Kontr.	85	77	53
	Zusatz	11	144	63
Teilungsfähige	Kontr.	3167	3981	2616
	Zusatz	4308	5478	2599

Tab. V: Signifikanzberechnung für Tab. IV

Erythropoese	24 h	n	48 h	n	72 h	n
B Kontr.	73	2175	85	1907	30	693
E Kontr.	77,076		62,500		29,939	
Q Kontr.	0,215		8,099		1,534	
B Zusatz	78	2086	87	3341	28	986
E Zusatz	73,923		109,499		34,060	
Q Zusatz	0,224		4,623		1,078	
χ^2	0,440		12,722		2,612	
Granulocytopoese						
B Kontr.	85	3617	77	3981	53	2616
E Kontr.	40,673		93,012		57,603	
Q Kontr.	48,308		2,756		0,367	
B Zusatz	11	4308	144	5478	63	2599
E Zusatz	55,326		127,987		57,229	
Q Zusatz	35,513		2,003		0,581	
χ^2	83,822		4,759		0,949	

Die χ^2 -Werte zeigen, daß die Statistik einen signifikanten Unterschied der Mitoseindices in der Erythropoese nach 48 h, in der Granulocytopoese nach 24 h ergibt.

Zu den anderen Beobachtungszeiten sind die Unterschiede statistisch nicht zu sichern. Es dürfte dies daran liegen, daß zu wenig Mitosen auftreten und damit das Untersuchungsgut für eine statistische Bearbeitung nicht umfangreich genug ist. Immerhin deuten die Werte der Tab. III in der Erythropoese auf eine verminderte Regeneration ab 48 h. In der Granulocytopoese ist der Mitoseindex erhöht.

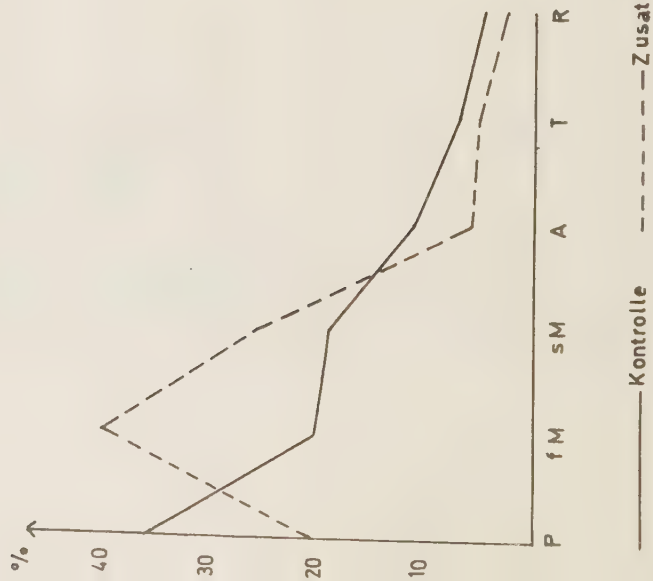
Tab. VI und Fig. 7 zeigen, daß nach Zusatz des Serumdialysates der Gipfel der Mitosephasen bei der frühen Metaphase liegt, sowohl in der Erythropoese als auch in der Granulocytopoese. Die statistische Überprüfung dieses Ergebnisses erbringt in der Erythropoese ein $\chi^2 = 14,604$, in der Granulocytopoese ein $\chi^2 = 20,977$. Das bedeutet, daß es sich um eine hoch signifikante Veränderung handelt.

Tabelle VI: Verteilung der Mitosen auf die Mitosephasen

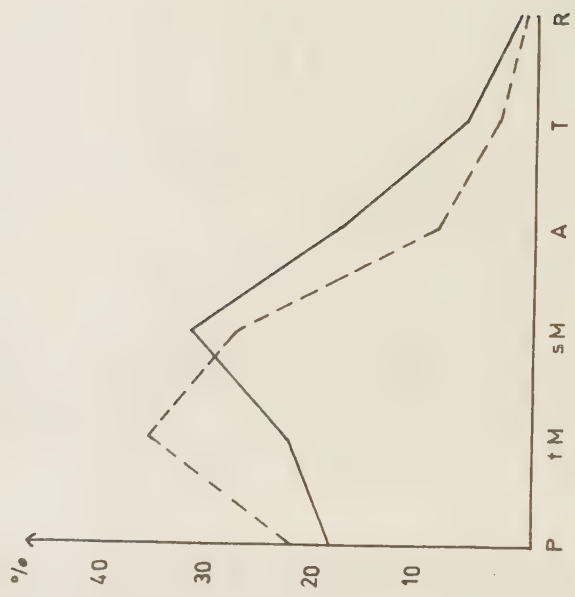
	<u>Erythropoese</u>				<u>Granulocytopoese</u>			
	Kontrolle		Zusatz		Kontrolle		Zusatz	
	Mitose %		Mitose %		Mitose %		Mitose %	
P	90	36,9	40	20,7	50	18,9	71	22,6
fM	50	20,5	78	40,4	61	23,0	144	36,2
sM	47	19,3	49	25,4	85	32,1	88	27,9
A	27	11,1	11	5,7	48	18,1	28	8,9
T	18	7,4	10	5,2	17	6,4	11	3,5
R	12	4,8	5	2,6	4	1,5	3	0,9
n	244	100,0	193	100,0	265	100,0	315	100,0

Caryologische Kurven der Erythropoese und Granulocytopoese

Erythropoese



Granulocytopoese



1.7 Caryologische Kurven der Erythropoese und der Granulocytopoese als Summe aller Versuche

Abzisse: Mitosephasen Ordinate: prozentuale Anteile

Die Tabelle VII zeigt die Einzelwerte der G/E-Indices und deren arithmetisches Mittel, in Fig. 8 sind diese graphisch dargestellt. Der G/E-Index der Kulturen mit Zusatz des Serumdialysates erhöht sich nach 24 Stunden, d.h. die Erythropoese nimmt im Verhältnis zur Granulocytopoese zu diesem Zeitpunkt ab. Später, nach 48 und 72 Stunden nimmt der Index ab, d.h. die Erythropoese nimmt zu.

Tabelle VII: G/E - Indices

	Kontrolle				Zusatz		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Fall I	2,70	2,00	2,14	5,69	2,00	1,80	1,74
Fall II	1,78	1,89	2,10	3,10	2,40	1,70	2,30
Fall III a	1,76	2,20	2,18	-	4,90	2,90	-
Fall III b	1,76	2,20	2,18	-	3,46	2,15	-
Fall IV	1,95	1,25	2,71	2,50	2,00	1,72	3,50
arithmetisches Mittel	1,99	1,90	2,26	3,76	2,95	2,06	2,51

Bei den Fällen III a und III b waren die Kulturzeiten für die Kontrolle 24 h, 46 h, 52 h, für den Zusatz 24 h, 48 h und 52 h. Die Werte für 46 h und 52 h wurden den 48 h - Werten zugeschlagen.

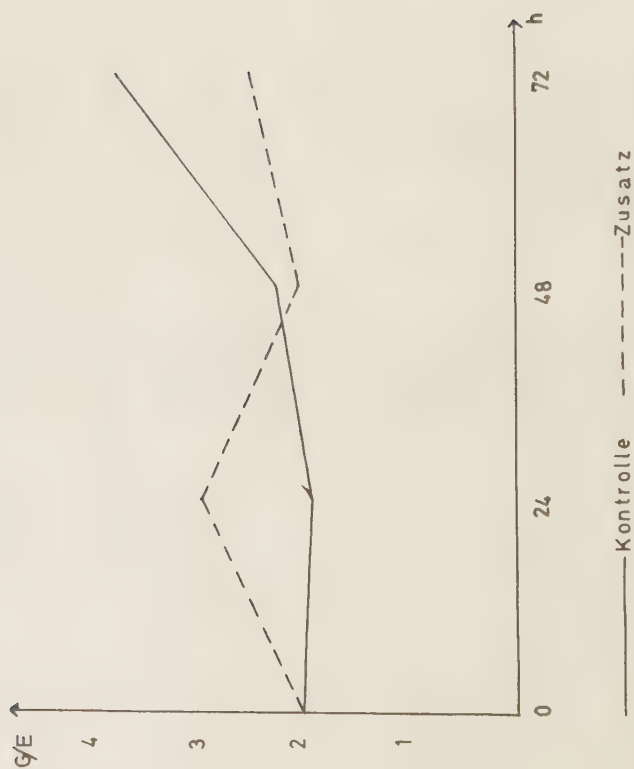


Fig. 8 G/E-Index als arithmetisches Mittel aller Versuche
Abszisse: Zeit in Stunden Ordinate: G/E - Index

Zusammenfassung der Ergebnisse

A. Reifungskurven

Die beiden hämatopoetischen Reihen verhalten sich nach Zugabe der Zusätze D-1 bzw. G-1 unterschiedlich:

In der Erythropoese zeigt sich eine über alle drei Beobachtungstage erstreckende Rechtsverschiebung in dem Versuch bei anbehandelter perniziöser Anämie. Das gleiche ist signifikant auch bei Versuch II nach 72 Stunden zu finden. In zwei Versuchen (Versuch III a und Versuch IV) ergibt sich durch das Dialysat eine Linksverschiebung.

Für die Granulocytopoese wurde in vier Versuchen nach 24 Stunden eine Rechtsverschiebung gefunden (Versuch I, II, III a, III b). Später wurde teilweise eine Linksverschiebung gesehen.

B. Mitoseindices

Die statistische Prüfung der Mitoseindices ist wegen der relativ geringen Anzahl der Mitosen nur bedingt zu verwerten. Aus Fig. 6 läßt sich eine Abnahme der Mitose-tätigkeit in der Erythropoese ab 48 Stunden ansehen, während in der Granulocytopoese der Index ab 24 Stunden zunimmt. Zu diesen Zeiten sind die Veränderungen signifikant.

C. Caryologische Kurven

Bei den Kontrollkulturen nimmt die prozentuale Verteilung der Mitosen in der Erythropoese von der Prophase bis zur Rekonstruktionsphase kontinuierlich ab. Bei den Zusatzkulturen liegt der Gipfel der Mitosehäufigkeit

bei der frühen Metaphase. In der Granulocytopoese steigt bei den Kontrollkulturen die Mitosehäufigkeit von der Prophase bis zur späten Metaphase an und nimmt dann bis zur Rekonstruktionsphase ab. Die Zusatzkulturen haben den Gipfel, wie in der Erythropoese, bei der frühen Metaphase.

D. G/E - Index

Der G/E - Index zeigt eine Abnahme der Erythropoese (Index steigt) nach 24 Stunden, während sie nach 48 und 72 Stunden zunimmt.

D. Diskussion

Um eine mögliche Wirkung der Milz auf das blutbildende System zu erkennen, ist es angebracht, das Knochenmark isoliert vom Organismus zu untersuchen. Mit der Untersuchung von Knochenmarkkulturen ist eine Methode gegeben, mit der sich denkbare Regulations- und Kompensationsmechanismen von seiten des Organismus ausschalten lassen. Wenn die Milz eine humorale Wirkung auf das Knochenmark hat, so muß durch Zusatz von Serum der Patienten mit Milztumor die Proliferation der Knochenmarkkulturen geändert werden können. Sind diese Veränderungen statistisch zu sichern, ist eine beweiskräftige Aussage möglich.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß der Zusatz eines Serum-dialysates von Patienten mit Milztumoren zu Knochenmarkkulturen die Regeneration und Ausreifung der Erythropoese und der Granulocytopoese beeinflußt. Diese Beeinflussung ist unterschiedlich für die beiden hämatopoetischen Reihen:

In der Erythropoese ist der Mitoseindex ab 48 h vermindert (Tab.III, Fig. 6). Weil dies Ergebnis signifikant ist, möchten wir dem Dialysat eine regenerationshemmende Wirkung auf die Erythroblasten zusprechen. Dies entspricht einem Ergebnis von P.A.MAURICE und A.JEANRENAUD. Sie fanden einen mitosevermindernden Faktor der Milz, der nach Milzbestrahlung freigesetzt wird. Von ALBERT und H.ZICKGRAF haben ebenfalls ein Absinken der Mitoserate durch Zusatz von Milzextrakt in Knochenmarkkulturen gefunden. I.BOLL fand dasselbe in Kulturen bei Patienten mit Milztumoren. Ob das Absinken der Mitosehäufigkeit dadurch zustande kommt, daß

die krankhaft vergrößerte Milz ihren fördernden Einfluß auf das Knochenmark verliert, wie G.RUHENSTROTH-BAUER annimmt, kann nicht entschieden werden.

Die Reifung der Erythropoese wird durch die Dialysate D-1 und G-1 nicht in allen Versuchen gleichsinnig beeinflusst. Da sich das Knochenmark bei perniziöser Anaemie üblicherweise in Kultur gegensätzlich zur normalen Erythropoese verhält (BOLL) ist der Versuch I als Ausnahme zu betrachten. In zwei Fällen (Versuch III a, IV), überwiegt die Reifungshemmung, die auch nach dem G/E - Index (Tab. VII) vorliegt. Wenngleich die Reifungshemmung bei uns nur geringfügig ist, entspricht sie Ergebnissen von BOLL.

In der Granulocytopoese finden wir ein Ansteigen des Mitoseindex zu allen drei Zeitpunkten, nach 24 Stunden ist die Erhöhung signifikant. Auf Grund der Mitosephasenverteilung (Tab. VI, Fig. 7) ist sie ein Zeichen der Mitosehemmung durch Spindelblockierung (BOLL), und entspricht den Ergebnissen von MAURICE, JEANRENAUD, BOLL u.a.

Bezüglich der Reifung der Granulocytopoese ergeben die Dialysate anfänglich eine mäßige Rechtsverschiebung, die anschließend zum Teil von einer Linksverschiebung gefolgt wird.

Das Gesamtserum, dem unsere Dialysate D-1 bzw. G-1 als Fraktion entstammen, ist in einer anderen Untersuchung (SCHULZ) geprüft worden. Dabei zeigte sich in der Erythropoese keine Beeinflussung, während die Granulocytopoese eine ausgeprägte Rechtsverschiebung, damit Reifungshemmung aufwies. Wie bei uns waren die frühen Metaphasen vermehrt.

Die Dialyse zur Gewinnung unserer Zusätze hat die Wirkung des Gesamtserums von Patienten mit Milztumor dahingehend

verändert, daß sich für die Erythropoese eine ab 48 Stunden verminderte Regeneration, gemessen am Mitoseindex, und eine verminderte Reifung, gemessen am G/E - Index und an den Reifungskurven, ergibt. Die dem Gesamtserum eigene Hemmung der Granulocytopoese findet sich bei den Dialysaten geringer und nur bis 24 Stunden. Der Mitoseablauf wird durch die Dialysate stärker gehemmt. Eine andere Fraktion der Gesamtseren hat eine sehr deutliche Reifungsförderung in der Erythropoese ergeben, während die Granulocytopoese unterschiedlich beeinflusst wurde (RIERE).

Diese und auch unsere Ergebnisse lassen es als wahrscheinlich annehmen, daß im Serum von Patienten mit Milztumor nicht nur eine Substanz oder Wirkgruppe enthalten ist, die die Kinetik des Knochenmarks beeinflussen. Vielmehr muß es sich um ein System aus Hemmungs- und Aktivierungsfaktoren handeln, die durch Fraktionieren des Serums isoliert werden können und deren unterschiedliche Wirkungen sich an Knochenmarkkulturen aufzeigen lassen.

E. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit ist ein Beitrag zur Frage einer möglichen humoralen Wirkung der Milz auf das menschliche Knochenmark.

Das Serum zweier Patienten, die einen Milztumor hatten, wurde gegen physiologische Kochsalzlösung von pH 7,2 dialysiert. Die Wirkung dieses Serumdialysates auf das Knochenmark wurde an fünf Knochenmarkkulturen überprüft. Nach 0, 24, 48 und 72 Stunden wurde an Kontroll- und Zusatzkulturen eine Differentialzählung durchgeführt. Außerdem wurde die Mitosehäufigkeit bestimmt. Die gefundenen Daten wurden mit Hilfe des χ^2 -Verfahrens statistisch geprüft.

Das Dialysat bewirkte in den Zusatzkulturen eine Abnahme des Mitoseindex in der Erythropoese, in der Granulocytopoese nahm der Index durch Vermehrung der frühen Metaphasen zu.

Für die Erythropoese wurde in zwei Fällen eine geringfügige Reifungshemmung gefunden. In der Granulocytopoese wurde bis 24 Stunden eine Rechtsverschiebung beobachtet. Später wurde die Reifungshemmung im Vergleich zum Gesamtserum abgeschwächt.

In Zusammenhang mit anderen Untersuchungen wird angenommen, daß im Serum von Patienten mit Milztumor Hemmungs- und Aktivierungsfaktoren vorliegen, deren Wirkung durch Fraktionieren des Serums dargestellt werden kann.

F. Literatur

- Von ALBERT, H.H.: Zur Frage einer depressorischen Knochenmarkswirkung "hypersplener" Milzen. I. Experimentelle Untersuchungen mit der Deckglaskultur-Methode Blut IX, 405 (1963)
- Von ALBERT, H.H. und ZICKGRAF, H.: Zur Frage einer depressorischen Knochenmarkswirkung "hypersplener" Milzen. II. Experimentelle Untersuchungen an der Flüssigkeitskultur. Blut XII, 104 (1966)
- BAUER, R. und HARTWEG, H.: Über die wechselseitigen Beziehungen von Milz und Knochenmark 2. Mitteilung, der Einfluß der Milz auf den Reaktionsablauf des peripheren Blutes nach Ganzkörperbestrahlung. Fortschr. Röntgenstr. 89,6 (1958)
- BELITZ, H.J.: Die Anwendung statistischer Methoden in der Biologie. Der Mathematikunterricht 3,83 (1960)
- BOCK, H. - E. und FRENZEL, B.: Splenogene Markhemmung. Klin. Wschr. 17,1315 (1938)
- BOLL, I.: Morphologische Studien zum Verhalten von Knochenmarkszellen in vitro. I. Granuloblastenmitosen. Fol. haemat. N. F. 3,58 (1958)
- BOLL, I. und BAUCKS, E.: Das Knochenmark beim Milztumor und seine Kinetik nach dem Verhalten in der 3-Tage-Kultur. Die Milz, Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1970 Seite 355
- BOLL, I.: Granulocytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1966

BOLL, I. und FUCHS, G.: Vereinfachtes Verfahren zur kurzfristigen Kultivierung von menschlichem Knochenmark in vitro.

Blut VII, 257 (1961)

BOLL, I. und MERSCH, G.: Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Erythropoese in vitro.

Blut XVII, 193 (1968)

COTTIER, H.: Experimenteller Beitrag zur Frage der hypersplenischen Panhämocytopenien.

Acta Haemat. 7, 303 (1952)

FRANKE, E.: Aleukia splenica

Berl. klin. Wschr. 53, 555 (1916)

GOSTOMZYK, J.G., ARNOLD, R. und RUHENSTROTH-BAUER, G.: Zur Bedeutung der Milz für die Reaktion des Knochenmarks auf Ganzkörperbestrahlung.

Schweiz. med. Wschr. 93, 42 (1963)

HECKNER, F.: Leitfaden der Blutzellkunde

Urban & Schwarzenberg, München und Berlin 1965

HEILMEYER, I.: Funktionsprüfung der Leukopoese des Knochenmarks.

Dtsch. med. Wschr. 82, 644 (1957)

JOMBRES, P.: Zur Frage der Hemmwirkung der Milz auf das Knochenmark.

Z. ges. exp. Med. 106, 457 (1939)

LI, J.G.: The Leucocytopenic Effekt of Focal Splenic X-Irradiation in Leukemic Patients.

Radiology Vol. 80, 471 (1963)

MAURICE, P.A. und JEANRENAUD, A.: Erythropoietic depression due to splenic irradiation. Experimental study of the distant radiological effekt.

Brit. J. Haemat. 10, 327 (1964)

PALMER, J.G., KEMP, J., CARTWRIGHT, G.E. und WINTROBE, M.M.: Studies on the effect of splenectomy on the total leukocyte count in the albino rat.

Blood 6,3 (1951)

RIEKE, E.: Die Einwirkung einer Serumfraktion III von Pat. mit Hypersplenie auf menschliches Knochenmark in vitro.

Diss. Berlin 1972

RUHENSTROTH-BAUER, G.: Versuche zum Nachweis eines spezifisch erythropoetischen Hormons.

Arch. exper. Path. und Pharmakol. 211, 32 (1950)

RUHENSTROTH-BAUER, G. und MAIER, K.H.: Versuche zum Nachweis eines spezifischen erythropoetischen Hormons.

Arch. exper. Path. und Pharmakol. 214, 46 (1952)

SCHULZ, R.M.: Die Wirkung von Seren bei Splenomegaliepatienten auf die Proliferation von menschlichem Knochenmark in vitro.

Dissertation in Vorbereitung

STREICHER, H.-H. und SCHMIDT, P.H.: Die Knochenmarksfunktionsprüfung unter besonderer Berücksichtigung der Milzexstirpation.

Klin. Wschr. 40,667 (1962)

WEINREICH, J.: Knochenmarksfunktionsprüfung bei Patienten mit chronischen Lebererkrankungen.

Acta hepato-splenol. 16, 18 (1969)

Die Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt.

Studie im Rahmen der Assoziation Haematologie EURATOM-GSF,
Nr. 031-64-1 BIAD.

Frau Prof.Dr. I. BOLL, Berlin, bin ich zu Dank verpflichtet für die freundliche Überlassung des Themas und der hilfreichen Anregungen bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Prof.Dr. G. RUHENSTROTH-BAUER, München, habe ich zu danken für die Fraktionierung der Seren.

Herrn Prof. Dr. H.J. BELITZ, Berlin, danke ich für die Beratung bei der statistischen Bearbeitung der Ergebnisse.

LEBENS LAUF

Am 23.7.1946 wurde ich als Sohn der Eheleute Georg Meißner und Anneliese Meißner, geb. Platz in Wegeleben geboren. 1953 flohen meine Eltern aus politischen Gründen in die Bundesrepublik, dadurch verzögerte sich meine Einschulung. 1958 besuchte ich in Hagen in Westfalen das Gymnasium, wo ich 1966 am Theodor-Heuss-Gymnasium die Reifeprüfung bestand.

Im Sommersemester 1967 wurde ich an der Freien Universität im Fach Zahnheilkunde immatrikuliert. Am 11.3.1968 bestand ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung, am 10.10.1969 die zahnärztliche Vorprüfung. Am 21.7.1972 bestand ich das zahnmedizinische Staatsexamen.

Seit dem 1.10.1972 bin ich in Berlin als Assistenz-zahnarzt tätig.



